北部湾珊瑚共附生真菌 *Cladosporium* sp. SCSIO41206 次级代谢产物研究

摘要：本文基于 OSMAC 策略对一株北部湾珊瑚共附生真菌 *Cladosporium* sp. SCSIO41206 次级代谢产物中结构新颖的化合物进行挖掘和探索。采用多种色谱技术方法对该菌的次级代谢产物进行分离纯化，并运用 NMR、MS 以及与相关文献数据比对方法进行化合物结构鉴定。研究结果表明，该真菌于 26℃下，采用马铃薯葡萄糖水（PBD）液体培养基静置培养 30d 时有更丰富的代谢产物；经分离鉴定，得到已知单体化合物 12 个，即 3-isobutylhexahydropyrrolo (1, 2-a) pyrazine-1, 4-dione（**1**）; 3-benzyl-7-hydroxyhexahydropyrrolo (1, 2-a) pyrazine-1, 4-dione（**2**）; 环(*L*-丙氨酸-*L*-4-羟基-脯氨酸)二肽（**3**）; 环(*L*- 脯氨酸 - 甘氨酸)二肽（**4**）; cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Ile（**5**）; 环(*L*－苯丙－甘)二肽（**6**）; cyclo-(4-*S*-hydroxy-*R*-proline-*R*-isoleucine)（**7**）; N-phenethylacetamide（**8**）; N-hydroxy-2-(hydroxyimino)-4-methylpentanamide（**9**）; quinolactacin A1（**10**）; quinolactacin A2（**11**）; Dibutylterephthalate（**12**）。化合物 **1-12** 均首次从北部湾珊瑚来源的枝孢菌属 *Cladosporium* sp.中分离获得。化合物 **2**、**3**、**4**、**8**、**10**、**11** 和 **12** 对乙酰胆碱酶有微弱的抑制活性。

关键词： *Cladosporium* sp.；次级代谢产物；结构鉴定；乙酰胆碱酶抑制活性

Study on the Secondary metabolites of *Cladosporium* sp. SCSIO41206, a symbiotic epiphytic fungus of coral in Gulf of Tonkin

Abstract: Based on the OSMAC strategy, this paper explores and investigates the structurally novel compounds in the secondary metabolites of *Cladosporium* sp. SCSIO41206, a coral-associated fungus from the Beibu Gulf. The Secondary metabolites of the bacterium were isolated and purified by various chromatographic techniques, and the compounds were identified by NMR, MS and data comparison with relevant literature. The research results showed that this fungus produced richer metabolites when cultured in the Potato Glucose Water (PBD) Liquid Culture Medium and incubated at 26°C for 30 days. Through isolation and identification, twelve known monomeric compounds were obtained, namely3-isobutylhexahydropyrrolo(1,2-a)pyrazine-1,4-dione(**1**);3-benzyl-7-hydroxyhexahydropyrrolo(1,2-a)pyrazine-1,4-dione(**2**);cyclo(*L*-proline-*L*-4-hydroxyproline)dipeptide(**3**);cyclo(*L*-proline-glycine)dipeptide(**4**);cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Ile(**5**);cyclo(phenylalanine-glycine)dipeptide(**6**);cyclo-(4-*S*-hydroxy-*R*-proline-*R*-isoleucine)(**7**);N-phenethylacetamide(**8**);N-hydroxy-2-(hydroxyimino)-4-methylpentanamide(**9**);quinolactacin A1(**10**); quinolactacin A2(**11**); Dibutylterephthalate(**12**). Compounds **10-12** were isolated for the first time from *Cladosporium* sp., a branch fungus obtained from the Beibu Gulf coral. Compounds **2**、**3**、**4**、**8**、**10**、**11** and **12** showed weak inhibitory activity against acetylcholinesterase.

Keywords: *Cladosporium* sp.; secondary metabolites; structural identification; acetylcholinesterase inhibitory activity

海洋栖息地由于其独特的环境条件和广阔的地域，孕育着比陆地环境更为丰富的生物资源。海量的海洋生物物种为获取大量结构多样、活性优异的天然产物提供了宝贵的资源(Song, et al.,2021)。近年来，海洋天然产物在药物开发中的应用取得了新的突破。迄今为止，已有 20 种来自海洋来源的药物正在临床使用(Haque, et al.,2022)。因此从海洋环境中分离出来共附生真菌产生的次级代谢产物是很有发展潜力的研究对象。

枝孢属真菌是一类资源很丰富的真菌，该属真菌次生代谢产物中化学成分的结构类型多，生物活性突出，包括生物碱类、聚酮类、大环内酯类、甾体和萜类等化合物，大多数具有抗菌、抗病毒和细胞毒等生物活性(董锦润,等,2021)，为药物活性分子提供了一个重要来源。Johanna Silber

等(Silber, et al.,2014)从一株海洋枝孢菌株中分离出了 4 个马来他汀化合物（1-4），其对人致病性皮肤真菌红色毛癣菌都具有一定的生物活性，IC_{50} 值为 28.3~37.9μM；Zhu 等(Zhu, et al.,2018)从海洋源真菌枝孢菌中分离到一种新的杂交聚酮类物质（1），其对 MCF-7、HeLa、HCT-116 和 HL-60 人癌细胞株具有细胞毒活性，半抑制浓度值分别为 18.7、19.1、17.9 和 9.1μM；Gu 等(Gu, et al.,2015)运用高速逆流色谱法从一种海洋真菌枝孢菌中分离到 3 个含硫的二酮哌嗪类化合物，它们都表现出抑制肝癌 Hep G2 细胞的增殖作用。但目前国内外对海洋来源的枝孢属真菌的报道较少。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

主要仪器包括旋转蒸发仪(EYELAN-1100V-W 型,日本东京理化株式会社)，AV500、AV600、AV-700 核磁共振仪(德国 Brucker 公司)， HITACHI L-2400 半制备 HPLC(日本日立公司)，ZYJ-S 型超净工作台(苏州净化设备有限公司)，中压制备柱色谱仪(Buchi 公司产品 C615/605)，HR-ESM-MS (德国 Brucker 公司)，96 孔细胞培养板（美国 Corning 公司）；葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20（美国 Pharmacia 公司）；他克林（批号 Lot#07220AV，美国 Aldrich 公司）。

主要试剂包括薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂)，10~40 目和 100~200 目正相硅胶(烟台江友硅胶开发有限公司)，反相硅胶(Merck 公司) 广州化学试剂厂和天津市富宇精细化工有限公司)等。

1.2 菌株的发酵和培养

菌株采集于广西北部湾，通过 DNA 扩增和 ITS 区序列鉴定为枝孢菌属(*Cladosporium* sp.)，编号为 SCSIO41206，现标本保存于中国科学院南海海洋研究所热带海洋生物资源与生态重点实验室。

菌株的活化和种子液的发酵培养见前面文献(She, et al. 2022)报道。将培养好的种子液分别接种到 200 瓶灭菌好的马铃薯葡萄糖水（PBD）液体培养基（PDB 培养基干粉 24g，1000ml 纯水）中静置培养 30d。

1.3 提取与分离

在菌株液体发酵培养基中加入同等体积的乙酸乙酯超声 30min，过夜浸泡后重复提取五次，浓缩后得到乙酸乙酯相浸膏 28.5g。粗提物浸膏采用中压正向硅胶柱进行分离，用 100-200 目硅胶拌样，流动相用石油醚：乙酸乙酯（V : V=100:0~1:1,流速为 100mL·min^{-1}）进行梯度洗脱，得到第一部分，再用石油醚：乙酸乙酯：甲醇（V : V : V = 20 : 20 : 1 ~ 0 : 0: 100, 流速 100mL·min^{-1}）梯度洗脱得到第二部分。两部分通过薄层色谱法(TLC)检识合并得 7 个馏分 Fr1~Fr7。其中 Fr3（250mg）经半制备 HPLC（ChromCore 120 C_{18}，5μm，10×250mm；$V_{甲醇}$：$V_{酸水}$=18：82；流速为 3 mL·min^{-1}）纯化后得到化合物 **12**（10.8mg，t_R=10min）；亚组分 Fr4.2（156.8mg）经半制备 HPLC（ChromCore 120 C_{18}，5μm，10×250mm；$V_{甲醇}$：$V_{酸水}$=16：84；流速为 3 mL·min^{-1}）纯化后得到化合物 **8** （46.01mg，t_R=9min）；Fr5（1.2g）经半制备 HPLC（ChromCore 120 C_{18}，5μm，10×250mm；$V_{甲醇}$：$V_{酸水}$=18：82；流速为 3 mL·min^{-1}）纯化后得到化合物 **1**（43.25mg，t_R=15min）和 **2**（27mg，t_R=18min），其中亚组分 Fr 5.3（18.8mg）经半制备 HPLC（ChromCore 120 C_{18}，5μm，10×250mm；$V_{甲醇}$：$V_{酸水}$=20：80；流速为 3 mL·min^{-1})纯化后得到化合物 **5**（2.01mg，t_R=7.5min）、**6**（2.17mg，t_R=9min）和 **7**（2.73mg，t_R=12min），亚组分 Fr5.2（10mg）经半制备 HPLC（ChromCore 120 C_{18}，5μm，10×250mm；$V_{甲醇}$：$V_{酸水}$=20：80；流速为 3 mL·min^{-1}）纯化后得到化合物 **9**（3.31mg，t_R=8.6min）；馏分 Fr6 经 Sepa flash 柱色谱（Spherical C_{18}，20~45μm），甲醇和水梯度洗脱，合并为 12 个组分 Fr.6-1~Fr.6-6。Fr.6-1（200mg）经半制备 HPLC（ChromCore 120 C_{18}，5μm，10×250mm；

$V_{甲醇}$：$V_{酸水}$=60：40；流速为 3 mL·min^{-1}）纯化后得到 Fr.6-1-2 和化合物 **4**（34.79mg，t_R=12min）；将亚组分 Fr.6-1-2（72.1mg）再经半制备 HPLC（ChromCore 120 C_{18}，5μm，10×250mm；$V_{甲醇}$：$V_{酸水}$=50：50；流速为 3 mL·min^{-1}）纯化后得到化合物 **3**（21.49mg，t_R=15min）；Fr7（500mg）经半制备 HPLC（ChromCore 120 C_{18}，5μm，10×250mm；$V_{乙腈}$：$V_{酸水}$=40：60；流速为 3 mL·min^{-1}）纯化后得到化合物 **10**（2.78mg，t_R=10min）和 **11**（2.45mg，t_R=10.5min）。化合物 **1-12** 结构如图 1 所示。

图 1 化合物 **1-12** 的结构

Fig1. The chemical structures of compounds **1-12** from *Cladosporium* sp.

1.4 活性实验

1.4.1 乙酰胆碱酶抑制活性实验

使用 Ellman 法对化合物的乙酰胆碱酯酶抑制活性评价，所有化合物均使用甲醇溶解，阳性药采用的是他克林。具体方法见前面报道的文献(蔡健, 等, 2021)。

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 **1**：白色粉末，ESI-MS m/z：227.5 $[M+H]^+$。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 8.00 (1H, s, 2-NH), 5.13 (1H, s, 7-OH), 4.39 (1H, dd, J = 10.7, 6.6 Hz, H-7), 4.28 (1H, t, J = 4.4 Hz, H-3), 4.07 – 4.02 (1H, m, H-9), 3.48 (1H, dd, J = 12.4, 4.4 Hz, H-6a), 3.23 (1H, d, J = 12.4 Hz, H-6b), 2.04 (1H, ddt, J = 13.1, 6.7, 1.6 Hz, H-8a), 1.90 (2H, dddd, J = 25.5, 12.7, 9.5, 5.3 Hz, H-10), 1.34 (1H, ddd, J = 13.7, 7.5, 5.9 Hz, H-8b), 0.87 (3H, d, J = 3.5 Hz, H-12), 0.85 (3H, d, J = 3.6 Hz, H-13);^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ 170.8(C-4), 166.7(C-1), 67.1(C-7), 57.1(C-9), 53.8(C-6), 52.6(C-3), 37.8(C-10), 36.7(C-8), 24.1(C-11), 22.9(C-13), 21.9(C-12)。以上数据与文献(Sun, et al.,2009, Fdhila, et al.,2003) 对照，基本一致，确定化合物结构为 3-isobutylhexahydropyrrolo (1, 2-a) pyrazine-1, 4-dione。

化合物 **2**：白色粉末，ESI-MS m/z：261.6$[M+H]^+$。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 7.99 (1H, s, 4-OH), 7.29 – 7.23 (4H, m, H-2',3',5',6'), 7.20 – 7.16 (1H, m, H-4'), 5.10 (1H, s, 8-NH), 4.40 (1H, t, J = 5.2 Hz, H-4), 4.31 (1H, ddd, J = 11.3, 6.3, 1.6 Hz, H-6), 4.19 (1H, t, J = 4.7 Hz, H-9), 3.52 (1H, dd, J = 12.5, 4.8 Hz, H-3), 3.16 (1H, d, J = 12.5 Hz, H-3), 3.11–2.97 (2H, m, H-10), 1.94 (1H, ddt, J = 13.0, 6.4, 1.5 Hz, H-5), 1.52 (1H, ddd, J = 12.8, 11.2, 4.5 Hz, H-5);13C NMR (125 MHz, DMSO) δ

169.6(C-1), 165.3(C-7), 137.3(C-1’), 129.8(C-2’ and C-6’), 128.0(C-3’ and 5’) , 126.4 (C-4’) , 66.8(C-4), 57.0(C-6), 55.7(C-9), 53.9(C-3), 37.2(C-5), 35.2(C-10)。以上数据与文献(Fdhila, et al.,2003)对照，基本一致，确定化合物结构为 3-benzyl-7-hydroxyhexahydropyrrolo (1, 2-a) pyrazine-1, 4-dione。

化合物 **3**：无色针状结晶，ESI-MS m/z：185.3 [M+H]$^+$。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 8.14 (1H, s, 4-NH), 5.10 (1H, s, 8-OH), 4.37 (1H, ddd, *J* = 11.0, 6.6, 1.5 Hz, H-6), 4.28 (1H, t, *J* = 4.4 Hz, H-8), 4.17 – 4.08 (1H, m, H-3), 3.50 (1H, dd, *J* = 12.4, 4.5 Hz, H-9), 3.22 (1H, d, *J* = 12.4 Hz, H-9), 2.04 (1H, ddt, *J* = 13.0, 6.6, 1.5 Hz, H-7), 1.91 (1H, ddd, *J* = 12.9, 10.9, 4.3 Hz, H-7), 1.21 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-10);^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ 170.4(C-2), 166.7(C-5), 67.1(C-8), 57.3(C-3), 53.8(C-7), 50.1(C-6), 36.9(C-9), 15.3(C-10)。以上数据与文献(王越，等,2022)对照，基本一致，确定化合物结构为环（*L*-丙氨酸-*L*-4-羟基-脯氨酸）二肽。

化合物 **4**：无色针状结晶，ESI-MS m/z：155.2 [M+H]$^+$。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 8.06 (1H, s, 7-NH), 4.15 – 4.08 (1H, m, H-3), 3.99 (1H, dd, *J* = 16.4, 1.8 Hz, H-3), 3.50 (1H, dd, *J* = 16.4, 4.5 Hz, H-7), 3.41 (1H, dt, *J* = 11.3, 7.7 Hz, H-5), 3.33 (1H, ddd, *J* = 11.6, 8.2, 3.3 Hz, H-5), 2.16 – 2.10 (1H, m, H-3), 1.89 – 1.75 (2H, m, H-4);^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ 169.3(C-1), 163.9(C-6), 58.0(C-2), 45.9(C-5), 44.7((C-7), 27.9(C-3), 22.1(C-4)。以上数据与文献(唐金山，等,2008)对照，基本一致，确定化合物结构为环（*L*-脯氨酸-甘氨酸）二肽。

化合物 **5**：白色固体，2.01mg，ESI-MS m/z：211.1 [M+H]$^+$。^{1}H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 7.96 (1H, s, 8-NH), 4.11 (1H, td, J = 7.1, 6.6, 3.6 Hz, H-6), 3.92 (1H, s, H-9), 2.34 (1H, pd, J = 7.1, 2.5 Hz, H-10), 2.16 – 2.11 (1H, m, H-5), 1.90 – 1.74 (2H, m, H-4), 1.01 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-12), 0.85 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-13);^{13}C NMR (150 MHz, DMSO) δ 170.3(C-1), 165.3(C-7), 59.5(C-6), 58.3(C-9), 44.6(C-3), 27.9(C-10), 27.7(C-5), 22.1(C-4), 18.3(C-13), 16.4(C-12)。以上数据与文献(Fdhila, et al.,2003)对照，基本一致，确定化合物结构为 cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Ile。

化合物 **6**：白色固体，2.17mg，ESI-MS m/z：204.1 [M+H]$^+$。^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 8.15 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, 5-NH), 7.89 (1H, s, 2-NH), 7.30 – 7.23 (3H, m, H-2’,4’,6’), 7.18 – 7.15 (2H, m, H-3’,5’), 4.06 (1H, q, *J* = 4.2, 3.1 Hz, H-6), 3.09 (1H, dd, *J* = 13.5, 4.5 Hz, H-7), 2.88 (1H, dd, *J* = 13.5, 5.0 Hz, H-7), 2.76 (1H, d, *J* = 17.3 Hz, H-3);^{13}C NMR (150 MHz, DMSO) δ 167.6(C-1), 166.1(C-4), 136.4(C-1’), 130.5(C-2’), 128.6(C-3’), 127.2(C-4’), 56.0(C-5), 44.1(C-3), 40.5(C-7)。以上数据与文献(曲承蕾，等,2015)对照，基本一致，确定化合物结构为环（ *L* – 苯丙 – 甘 ）二肽。

化合物 **7**：白色固体，2.73mg，ESI-MS m/z：226.13 [M+H]$^+$。^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 7.96 (1H, s, 8-NH), 4.32 (1H, ddd, *J* = 11.2, 6.3, 1.7 Hz, H-6), 4.28 (1H, t, *J* = 4.4 Hz, H-4), 4.00 (1H, s, H-9), 3.52 (1H, dd, *J* = 12.5, 4.6 Hz, H-3), 3.21 (1H, d, *J* = 12.5 Hz, H-3), 2.03 (2H, dddd, *J* = 18.7, 9.5, 5.4, 1.9 Hz, H-5 and H-10), 1.88 (1H, ddd, *J* = 12.9, 11.2, 4.4 Hz, H-5), 1.34 (1H, dtd, *J* = 15.1, 7.5, 4.5 Hz, H-11), 1.29 – 1.22 (1H, m, H-11), 0.98 (3H, d, *J* = 7.1 Hz, H-13), 0.82 (3H,t, *J* = 7.4 Hz, H-12);^{13}C NMR (150 MHz, DMSO) δ 170.5(C-7), 165.4(C-1), 66.9(C-4), 59.1(C-9), 56.7(C-6), 53.8(C-3), 37.2(C-5), 34.8(C-10), 23.9(C-11), 15.0(C-13), 12.3(C-12)。以上数据与文献(Ovenden, et al.,2011)对照，基本一致，确定化合物结构为 cyclo-(4-*S*-hydroxy-*R*-proline-*R*-isoleucine)。

化合物 **8**：棕色油状，ESI-MS m/z：164.2[M+H]$^+$。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 7.93 (1H, s, NH), 7.32 – 7.25 (2H, m, H-3,5), 7.20 (3H, d, *J* = 7.4 Hz, H-2,4,6), 3.28 – 3.23 (2H, m, H-8), 2.70 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-7), 1.79 (3H, s, H-10)；^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ 169.2(C-9), 139.6(C-1), 128.6(C-3,5),

128.3(C-2,6), 126.1(C-4), 40.3(C-8), 35.2(C-7), 22.6(C-10)。以上数据与文献(曹阳, 等,2020)对照，基本一致，确定化合物结构为 N-phenethylacetamide。

化合物 **9**：白色固体，3.31mg，ESI-MS m/z：114.09 $[M+H]^+$。^1H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11.53 (1H, s, 2-N-OH), 7.15 (2H, d, J = 75.5 Hz, 1-NH), 2.35 (2H, d, J = 7.4 Hz, H-3), 1.91 (1H, hept, J = 6.9 Hz, H-4), 0.83 (6H, d, J = 6.7 Hz, H-5 and 6); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO) δ 165.9(C-1), 153.4(C-2), 31.6(C-3), 25.9(C-4), 22.7(C-5 and 6)。以上数据与文献(Su, et al.,2022)对照，基本一致，确定化合物结构为 N-hydroxy-2-(hydroxyimino)-4-methylpentanamide。

化合物 **10**：黄色油状，ESI-MS m/z：271.1 $[M+H]^+$。^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 8.26 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-8), 7.83(2H, d, J = 1.7 Hz, H-5,6), 7.49 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-7), 4.91 (1H, s, H-3), 3.85 (3H, s, N- CH_3), 2.18 (1H, tt, J = 7.1, 3.6 Hz, H-1'), 1.28 – 1.20 (2H,m, H-2'), 1.01 (3H, t, J = 7.4 Hz, H-2'-CH_3), 0.44 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-1'-CH_3);^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ171.6(C-9), 168.5(C-1), 164.2(C-3a), 141.3(C-4a), 132.6(C-6), 128.0(C-8a), 125.9(C-8), 124.4(C-7), 117.2(C-5), 110.3(C-9a), 56.9(C-3), 36.1(N-CH_3), 35.7(C-1'), 27.3(C-2'), 12.0(2'-CH_3), 11.5(1'-CH_3)。以上数据与文献(Kozlovsky, et al.,2003, Kim, et al.,2010)对照，基本一致，确定化合物结构为 quinolactacin A1。

化合物 **11**：黄色油状，ESI-MS m/z：271.1 $[M+H]^+$。^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 8.26 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-8), 7.83 (2H, d, J = 1.7 Hz, H-5,6), 7.49 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-7), 4.83 (1H, s, H-3), 3.82 (3H, s, N- CH_3), 2.18 (1H, tt, J = 7.1, 3.6 Hz, H-1'), 1.13 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-1'-CH_3), 0.86 (2H, td, J = 7.3, 2.8 Hz, H-2'),0.66 (3H, t, J = 7.4 Hz, H-2'-CH_3);^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ 171.6(C-9), 168.7(C-1), 164.6(C-3a), 141.3(C-4a), 132.6(C-6), 128.0(C-8a), 125.9(C-8), 124.4(C-7), 117.2(C-5), 110.3(C-9a), 59.0(C-3), 36.1(N-CH_3), 35.8(C-1'), 20.9(C-2'), 17.6(1'-CH_3), 11.6(2'-CH_3)。以上数据与文献(Kozlovsky, et al.,2003, Kim, et al.,2010)对照，基本一致，确定化合物结构为 quinolactacin A2。

化合物 **12**：黄色油状，ESI-MS m/z：279.7 $[M+H]^+$。^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 7.73 – 7.69 (2H, m, H-2,6), 7.66 (2H, dt, J = 5.4, 3.7 Hz, H-3,5), 4.22 (4H, t, J = 6.6 Hz, H-9 and 9'), 1.67 – 1.60 (4H, m,H-10 and 10'), 1.41 – 1.33 (4H, m, H-11 and 11'), 0.90 (6H, t, J = 7.4 Hz, H-12 and 12');^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ 167.0(C-7 and 7'), 131.7(C-1 and 4), 131.5(C-2 and 6), 128.7(C-3 and 5), 65.0(C-9 and 9'), 30.0(C-10 and 10'), 18.7(C-11 and 11'), 13.5(C-12 and 12')。以上数据与文献(牛锋, 等,2006)对照，基本一致，确定化合物结构为 Dibutylterephthalate。

2.2 活性结果

对分离得到的 12 个化合物测试了乙酰胆碱酶抑制活性，其中化合物 **2**、**3**、**4**、**8**、**10**、**11** 和 **12** 有对乙酰胆碱酶有较弱的抑制活性，在终浓度为 0.05μg·μl^{-1} 时抑制率为 17.45%、18.93%、13.97%、14.13%、32.3%、26.2%（阳性对照他克林在终浓度为 0.333μM 时抑制率为 72.2%）。

3 讨论

海洋环境是个还未被充分开发的宝藏，许多与海洋相关的枝孢菌种类显示出明显的酶生产能力(Mohamed and Ibrahim,2021)。本文对北部湾来源北部湾珊瑚来源的枝孢菌属 *Cladosporium* sp. SCSIO41206 的次级代谢产物进行研究，分离获得了 12 个单体化合物，代谢产物的主要类型为环二肽和喹啉类生物碱，该菌是否会代谢其他类型的化合物后续有待改变发酵条件进一步挖掘。

其中化合物 **1-12 均**为首次从北部湾来源枝孢菌属中分离得到。据文献报道，化合物 **10** 对氯喹敏感的恶性疟原虫 3D7 具有抗疟原虫的(Mohamed and Ibrahim,2021)潜力，且与 SYBR Green I 试验中青蒿琥酯（EC_{50} 0.074μM）相比，具有抗疟原虫作用（EC_{50} 24.8μM）；化合物 **1**，**2**，**3**，**4**，**5** 和 **7**(Fdhila, et al.,2003)对鳗弧菌具有很强的抑制活性，MIC 值在 0.03~0.07$\mu g \cdot ml^{-1}$ 之间，比水产养殖中实际使用的一些抗生素如土四环素（MIC 0.5$\mu g \cdot ml^{-1}$）低 10 倍，且化合物 **1-7** 是含有 2，5-二酮哌嗪六元环重要药效基团的二酮哌嗪类化合物，该类化合物具有抗肿瘤、抗病毒、抗炎、抗菌等广泛的生物活性(邢楠楠，等)，具有作为药物或者药物先导物的潜力。本文对分离得到的 12 个化合物测试了乙酰胆碱酶抑制活性，发现其中化合物 **2**、**3**、**4**、**8**、**10**、**11** 和 **12** 有微弱活性，其他活性还待挖掘。本研究结果进一步丰富了北部湾地区珊瑚来源的枝孢菌属的天然产物的结构类型，并对分离得到单体化合物做了生物活性实验，为北部湾来源的枝孢菌属的次级代谢产物研究奠定了基础。

参考文献 References

曹阳，董升，李博腾，等, 2020，蝙蝠蛾拟青霉菌丝体化学成分的分离与鉴定(Ⅱ) [J]. 中国药物化学杂志, 30(07): 423-7. CAO YANG, DONG SHEN, LI BOTENG, et al., 2020, Isolation and identification of chemical constituents from the Mycelium of Paecilomyces batatae (II) [J] Chinese Journal of Medicinal chemistry, 30 (07): 423-7(in Chinese with English abstract).

蔡健，梁曼颖，王健娇，等, 2021，长棘海星中含氮类化学成分研究 [J]. 中国海洋药物, 40(04): 45-9. CAI JIAN, LIANG MANYING, WANG JIANJIAO, et al., 2021, Nitrogenous chemical constituents from Acanthaster planci [J] Chinese Marine Medicine, 40 (04): 45-9(in Chinese with English abstract).

董锦润，李靖，陈玉惠，等, 2021，枝孢属真菌次生代谢产物中化学成分及其生物活性的研究进展 [J]. 中草药, 52(19): 6076-87. DONG JINRUN, LI JING, CHEN YUHUI, et al., 2021. Research progress on chemical components and biological activities of secondary metabolites in Cladosporium fungi [J] Chinese herbal medicine, 52 (19): 6076-87(in Chinese with English abstract).

牛锋，谢光波，崔征，等, 2006，天葵子的化学成分研究(英文) [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, (04): 251-4. NIU FENG, XIE GUANGBO, CUI ZHENG, et al., 2006. Study on the Chemical Constituents of Tiankui Seed [J] Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, (04): 251-4

曲承蕾，杨雪，张淑敏，等, 2015，海洋源放线菌 Streptomyces sp.223 中二酮哌嗪类成分的研究 [J]. 中国海洋药物, 34(03): 23-8. QU CHENGLEI, YANG XUE, ZHANG SHUMIN, et al.,

2015. Study on the Diketopiperazine Compounds in Marine Actinomyces sp.223 [J] Chinese Marine Medicine, 34 (03): 23-8(in Chinese with English abstract).

唐金山, 高昊, 洪葵, 等, 2008, 红树林细菌 Bacillus sp.次生代谢产物研究 [J]. 中国药物化学杂志, (03): 206-9. TANG JINSHAN, GAO HAO, HONG KUI, et al., 2008. Secondary metabolites from a mangrove bacterium Bacillus sp.[J] Chinese Journal of Medicinal chemistry, (03): 206-9 (in Chinese with English abstract).

王越, 张玉琴, 徐喆菲, 等, 2022, 红榄李内生真菌 Aspergillus terreus HT-1 二酮哌嗪类次级代谢产物研究 [J]. 中国海洋药物, 41(06): 10-6. WANG YUE, ZHANG YUQIN, XU ZHEFEI, et al., 2022, Study on the Secondary metabolite of the endophytic fungus Aspergillus terreus HT-1 diketopiperazines in the red olive plum [J] Chinese Marine Medicine, 41 (06): 10-6 (in Chinese with English abstract).

邢楠楠, 任润馨, 唐振洲, 等, 涠洲岛海洋沉积物来源真菌 Aspergillus sp.GXIMD02003 的代谢产物研究 [J]. 热带海洋学报: 1-7. XING NANNAN, REN RUNXIN,TANG ZHENZHOU, et al., Study on metabolites of marine sediment derived fungus Aspergillus sp. GXIMD02003 in Weizhou Island [J] Journal of Tropical Oceanography: 1-7 (in Chinese with English abstract).

SONG C., YANG J., ZHANG M., et al., 2021, Marine Natural Products: The Important Resource of Biological Insecticide [J]. Chem Biodivers, 18(5): e2001020.

HAQUE N., PARVEEN S., TANG T., et al., 2022, Marine Natural Products in Clinical Use [J]. Mar Drugs, 20(8):528.

SILBER JOHANNA, OHLENDORF BIRGIT, LABES ANTJE, et al., 2014, Malettinin E, an antibacterial and antifungal tropolone produced by a marine Cladosporium strain [J]. Frontiers in Marine Science, 1:e2014035.

ZHU G., KONG F., WANG Y., et al., 2018, Cladodionen, a Cytotoxic Hybrid Polyketide from the Marine-Derived Cladosporium sp. OUCMDZ-1635 [J]. Mar Drugs, 16(2):71.

GU B., ZHANG Y., DING L., et al., 2015, Preparative separation of sulfur-containing diketopiperazines from marine fungus Cladosporium sp. using high-speed counter-current chromatography in stepwise elution mode [J]. Mar Drugs, 13(1): 354-65.

SUN SHA, TIAN LI, WANG YANAN, et al., 2009, A novel natural product from the fermentation liquid of marine fungus Trichoderma atroviride G20-12 [J]. Asian J Trad Med, 4(3):127.

FDHILA FAOUZI, VáZQUEZ VICTORIANO, SáNCHEZ JOSé LUIS, et al., 2003, dd-Diketopiperazines: Antibiotics Active against Vibrio anguillarum Isolated from Marine Bacteria Associated with Cultures of Pecten maximus [J]. Journal of Natural Products, 66(10): 1299-301.

FDHILA F., VAZQUEZ V., SANCHEZ J. L., et al., 2003, dd-diketopiperazines: antibiotics active against Vibrio anguillarum isolated from marine bacteria associated with cultures of Pecten maximus [J]. J Nat Prod, 66(10): 1299-301.

OVENDEN S. P. B., NIELSON J. L., LIPTROT C. H., et al., 2011, A new diketopiperazine, cyclo-(4-S-hydroxy-R-proline-R-isoleucine), from an Australian specimen of the sponge Stelletta sp [J]. Mar Drugs, 9(11): 2469-78.

SU Z., LI K., LUO X., et al., 2022, Aromatic Acids and Leucine Derivatives Produced from the Deep-Sea Actinomycetes Streptomyceschumphonensis SCSIO15079 with Antihyperlipidemic Activities [J]. Mar Drugs, 20(4):259.

KOZLOVSKY A. G., ZHELIFONOVA V. P., ANTIPOVA T. V., et al., 2003, Quinocitrinines A and B, New Quinoline Alkaloids from Penicillium citrinum Thom 1910, a Permafrost Fungus [J].

ChemInform, 34(45):488-491.

KIM WON-GON, SONG NAN-KYU, YOO ICK-DONG, 2010, ChemInform Abstract: Quinolactacins A1 and A2, New Acetylcholinesterase Inhibitors from Penicillium citrinum [J]. ChemInform, 33(15): 831-835.

MOHAMED G. A., IBRAHIM S. R. M., 2021, Untapped Potential of Marine-Associated Cladosporium Species: An Overview on Secondary Metabolites, Biotechnological Relevance, and Biological Activities [J]. Mar Drugs, 19(11):645.

SHE J., CHEN Y., YE Y., et al., 2022, New Carboxamides and a New Polyketide from the Sponge-Derived Fungus Arthrinium sp. SCSIO 41421 [J]. Mar Drugs, 20(8):475.